泛酸干预脂肪甘油三酯脂肪酶和长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 基因表达对鹅生长和脂类代谢的 反向调控

孔 敏 <sup>1,2</sup> 王宝维 <sup>1,2\*</sup> 葛文华 <sup>1</sup> 张名爱 <sup>1</sup> 马传兴 <sup>1,2</sup> 张 肖 <sup>1,2</sup> (1.青岛农业大学优质水禽研究所,国家水禽产业技术体系营养与饲料功能研究室,青岛 266109; 2.青岛农业大学动物科技学院,青岛 266109)

摘 要: 本试验通过研究泛酸对 5~16 周龄五龙鹅肝脏中脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)和 长链脂酰辅酶 A 合成酶 1 (ACSL1) 基因表达的影响,并分析其与生长性能、屠宰性能、肉 品质的相关性,旨在从分子角度确定鹅饲粮中泛酸的适宜添加水平。选择5周龄五龙鹅360 只,随机分为6个组,每个组6个重复,每个重复10只鹅。各组饲粮中泛酸添加水平分别 为 0 (对照)、5、10、20、40、80 mg/kg。试验期 12 周。结果表明: 1) 随着饲粮泛酸添加 水平的提高, ATGL mRNA 的表达量呈现先降低后升高的趋势, ACSL1 mRNA 表达量呈现先 升高后降低的趋势。由回归方程得出,当饲粮泛酸添加水平为13.86 mg/kg 时,ATGL mRNA 表达量最低; 当添加水平为 22.07 mg/kg 时, ACSL1 mRNA 表达量最高。2)与对照组相比, 饲粮泛酸添加水平为 10~20 mg/kg 时极显著提高了五龙鹅的体重和平均日增重(P<0.01), 同时极显著降低料重比(P<0.01)。3)ATGL mRNA 表达量与胸肌率、腿肌率、屠宰率、半 净膛率和全净膛率呈负相关: ACSL1 mRNA 表达量与胸肌率、腿肌率、屠宰率、半净膛率 和全净膛率呈正相关; 二者 mRNA 表达量与腹脂率均呈负相关。4) ACSL1 mRNA 表达量 与红度和滴水损失显著相关(P<0.05)。5) ATGL mRNA 表达量与血清脂类代谢各项指标 呈正相关; ACSL1 mRNA 表达量与血清脂类代谢各项指标呈负相关。由此表明, ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量对鹅机体生长速度、屠宰性能和脂类代谢呈同步反向调控机制;从 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量优势分析,建议 5~16 周龄鹅饲粮中泛酸适宜添加水平为 13.86~22.07 mg/kg o

关键词:泛酸; ATGL; ACSL1; 基因调控; 生长发育; 脂类代谢中图分类号: S835 文献标识码: 文章编号:

泛酸即维生素  $B_5$ ,是畜禽所必需的维生素之一,具有水溶性,也是机体内多种生理和生化过程所必需的辅助因子,泛酸广泛参与多种基因的表达调控。脂肪甘油三酯脂肪酶(ATGL)是近年来发现的一种新的脂肪酶,它主要参与体内甘油三酯水解第一步的反应 $^{[1]}$ ,

收稿日期: 2015-12-10

基金项目: 国家水禽产业技术体系专项基金(CARS-43-11); 山东省良种工程(2014LZ19)

作者简介: 孔 敏(1988—), 男, 山东烟台人, 硕士研究生, 从事动物遗传育种与繁育。E-mail:

<sup>364253720@</sup>qq.com

<sup>\*</sup>通信作者:王宝维,教授,硕士生导师,E-mail:wangbw@qau.edu.cn

参与脂肪动员过程,能防止脂肪在体内的过度积累,调节机体的生长发育。研究发现,ATGL的活性并不依赖于蛋白激酶 A(PKA)的调控<sup>[2]</sup>,激素、过氧化物酶体增殖物激活受体激动剂、饲料等都会影响 ATGL 基因和蛋白质的表达水平<sup>[3]</sup>。脂肪酸进行β氧化之前需要活化生成脂酰辅酶 A,活化后生成的脂酰辅酶 A 进入脂肪酸β-氧化过程,此步反应由长链脂酰辅酶 A 合成酶 1(acyl-CoA synthetase,ACSL1)催化<sup>[4]</sup>,需要 ATP、镁离子(Mg<sup>2+</sup>)、辅酶 A 等参与<sup>[5]</sup>,ACSL1 在甘油三酯、磷脂和胆固醇脂的合成中也起着关键作用。泛酸在体内不能储存,在组织中泛酸被转化成辅酶 A 及其他化合物,在肝脏和肾脏中的浓度较高<sup>[6]</sup>。由此可见,在动物体内脂肪代谢过程中,ATGL 和 ACSL1 都扮演了重要的角色。然而,目前关于泛酸对 ATGL 和 ACSL1 基因表达的影响在家禽研究上尚未报道,国内鹅养殖业中对泛酸的添加水平主要以 NRC(1994)<sup>[7]</sup>为参考,4 周龄以后鹅的泛酸的添加水平为 10 mg/kg。为此,本试验以 5~16 周龄五龙鹅为试验对象,通过研究饲粮中不同泛酸添加水平对鹅肝脏中 ATGL和 ACSL1 基因表达的影响,并分析基因表达量与生长性能、屠宰性能和胴体品质的相关性,以确定泛酸对生长发育、肉品质和脂类代谢调控规律和适宜添加水平,为指导养鹅生产提供理论依据。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 试验动物与设计

选择初始体重差异不显著(P>0.05)的 5 周龄五龙鹅 360 只,随机分为 6 个组,每个组 6 个重复,每个重复 10 只鹅(公母各占 1/2)。各组(I~VI组)饲粮中泛酸添加水平以 NRC(1994)标准为主要参考依据; I组为对照组,饲喂基础饲粮; II~VI组分别饲喂在基础饲粮中添加 5、10、20、40、80 mg/kg 泛酸的试验饲粮。试验鹅由国家水禽产业技术体系育种基地高密银河润雁鹅业有限公司提供。试验用泛酸钙(纯度为 98%)购自青岛普兴生物科技有限公司。

#### 1.2 试验饲粮

基础饲粮营养水平参照 NRC (1994) 家禽营养需要量设计配方。基础饲粮组成及营养水平见表 1。采用高效液相色谱法测得基础饲粮中泛酸含量为 9.45 mg/kg。

表 1 基础饲粮组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Compositi	on and nutrient lev	vels of the basal diet (air-dry b	pasis) %
原料 Ingredients	含量 Content	营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	含量 Content
玉米 Corn	61.97	代谢能 ME/(MJ/kg)	11.29
豆粕 Soybean meal	22.00	粗蛋白质 CP	16.00
鱼粉 Fish meal	1.50	粗纤维 CF	4.98
次粉 Wheat middling	4.00	钙 Ca	0.70

玉米秸秆 Corn straw	8.00	有效磷 AP	0.32
磷酸氢钙 CaHPO4	0.78	赖氨酸 Lys	0.82
石粉 Limestone	0.95	蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.53
食盐 NaCl	0.30	蛋氨酸 Met	0.26
微量元素 Trace	0.30	苏氨酸 Thr	0.58
elements <sup>1)</sup>			
多维 Multivitamin <sup>1)</sup>	0.20	泛酸 Pantothenic acid/(mg/kg)	9.45
合计 Total	100.00		

<sup>1)</sup> 多维和微量元素(不含泛酸)为每千克饲粮提供 The multivitamin and trace elements (without pantothenic acid) provided the following per kg of the diet: VA 1 500 mg, VD<sub>3</sub> 200 IU, VE 12.5 mg, VK<sub>3</sub> 1.5 mg, VB<sub>1</sub> 2.2 mg, VB<sub>2</sub> 5.0 mg, 烟酸 nicotinic acid 65 mg, VB<sub>6</sub> 2 mg, 生物素 biotin 0.2 mg, 叶酸 folic acid 0.5 mg, 胆碱 choline 1 000 mg, Fe 85 mg, Cu 5 mg, Mn 80 mg, Zn 80 mg, I 0.42 mg, Se 0.3 mg, Co 2.5 mg。

<sup>2)</sup> 泛酸为实测值,其他营养水平为计算值。Pantothenic acid was a measured value, while other nutrient levels were calculated values.

### 1.3 饲养管理

试验前对鹅舍进行全面消毒;全期采取舍饲,地面厚垫料分栏饲养;试验鹅自由饮水和采食;少喂勤添;注意观察鹅群的健康状况。

#### 1.4 测定指标及方法

## 1.4.1 生长性能指标

16周龄末,分别以重复为单位对试验鹅进行空腹称重,计算5~16周龄鹅的平均日增重(ADG),每日统计饲料消耗量,计算平均日采食量(ADFI)和料重比(F/G)。

#### 1.4.2 屠宰性能指标

16周龄末,翅静脉采血后对各组试验鹅进行屠宰(共72只,公母各占1/2);宰前禁食12h,按照《家禽生产性能名词术语和度量统计方法》(NY/T 823-2004)<sup>[8]</sup>测定屠体重、半净膛重、全净膛重、腹脂重、胸肌重和腿肌重,并计算屠宰率、全净膛率、半净膛率、腹脂率、腿肌率和胸肌率6项屠宰性能指标。

### 1.4.3 肌肉品质

16 周龄末,每个重复随机选择 2 只鹅,6 个组共 72 只(公母各占 1/2),翅静脉采血,屠宰后采用《肉制品检测标准》(GB/T 9695)<sup>[9]</sup>测定肌肉品质。把整个胸肌从胸骨上剥离,取前端胸大肌作为肉样,用日本全自动色彩色差计测定胸肌肉色,用物性测试仪(TA-XT PLUS)测定剪切力,用 HANHA-HI9025 便携式酸度计测定 pH,用自然蒸发法(吊袋法)测滴水损失,用压力计测失水率。

#### 1.4.4 血清生化指标

16 周龄末,每个重复随机选择 2 只鹅,6个组共 72 只(公母各占 1/2),翅下静脉采血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液。血清中甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇含量均用试剂盒测定,所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.4.5 基因表达量测定

16 周龄末,对试验鹅进行屠宰时,取肝脏样品用液氮保存备用。将肝脏样品从液氮中取出,迅速剪取 50~100 mg,加入 1 mL RNAiso<sup>TM</sup>Plus 试剂,按照说明书方法提取总 RNA。用分光光度计(UV-1100)检查总 RNA 浓度及纯度;用琼脂糖凝胶电泳鉴定 RNA 质量,将RNA 溶液稀释为 1.0 μg/μL。

按照试剂盒说明书,用 PrimeScript™ RT Reagent Kit(TaKaRa,DRR037D)对提取的 RNA 立即进行反转录试验。反转录反应体系为 20 μL: 10 μL 2×RT Buffer,1 μL 随机引物(100 pmol/μL),1 μL RT-mix,5 μL 模板(RNA),3 μL 焦碳酸二乙酯(DEPC)水。反应条件: 轻轻搅拌; 25 °C 10 min,42 °C 60 min,85 °C 5 min,反应结束后,将反转产物 cDNA 置于-20 °C保存。

根据 GenBank 发表的鹅的 *ATGL* mRNA 序列(GenBank 登录号 HQ 914789)和 *ACSL* 1 mRNA 序列(GenBank 登录号 GQ 891991)与鹅的全部基因组序列相对比,应用 Primer 5.0 软件进行引物设计,*ATGL* 基因上游引物 5′-TCGCAACCTCTACCGCCTCT-3′,下游引物 5′-TCCGCACAAGCCTCCATAAGA-3′; *ACSL*1 基因上游引物 5′-GGAGGAAGAGTAAGGCT GATGGT-3′,下游引物 5′-CCAGGAACCGACAGTGAGCAT-3′;β-肌动蛋白(β-actin)为内 参基因,上游引物 5′-GTTCTTGACTCTGGCGATGG-3′,下游引物 5′-TAAGGTTTCAGGAC AGCGGA-3′。预测扩增长度为 130 bp 左右,基因扩增设计的引物由上海生工生物公司合成。

用实时定量 PCR 仪(Bio-Rad CFX)对反转录产物 cDNA 进行定量 PCR,PCR 反应体系为 50  $\mu$ L: 25  $\mu$ L 2×PCR Buffer,1.2  $\mu$ L Primer (25 pmol/ $\mu$ L),0.3  $\mu$ L SYBR Green I,1  $\mu$ L 模板(cDNA),22.5  $\mu$ L DEPC 水反应条件: 94  $^{\circ}$ C 4 min; 94  $^{\circ}$ C 20 s; 60  $^{\circ}$ C 30 s; 72  $^{\circ}$ C 30 s; 循环 35 次,观察扩增曲线。

## 1.5 数据处理与统计分析

采用 2-<sup>Δ</sup> <sup>Ct</sup> 法处理试验原始数据,然后再将所得数据采用 SPSS 17.0 进行单因素方差分析 (one-way ANOVA),显著性检验用 LSD 法,并在对比中选择多项式进行一次线性和二次曲线分析,同时对该基因表达量与其他指标的相关性进行分析。

## 2 结果与分析

## 2.1 饲粮泛酸添加水平对鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量的影响

由表 2 可知,饲粮泛酸添加水平 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量有极显著影响(P<0.01)。 ATGL mRNA 表达量随饲粮泛酸添加水平增加,呈现先降低后升高的趋势,III组 ATGL mRNA 表达量显著或极显著低于其他组(P<0.05 或 P<0.01)。 ACSL1 mRNA 表达量随饲粮泛酸添加水平的增加,呈现先升高后降低的趋势,III、IV组 ACSL1 mRNA 表达量显著或极显著高于其他组(P<0.05 或 P<0.01)。

以上结果表明,饲粮泛酸添加水平较低时,试验鹅体内过氧化物酶体脂肪酸  $\beta$ -氧化受到抑制,同时 ATGL mRNA 表达量逐渐减少,ACSL1 mRNA 表达量升高,有助于机体内长链脂肪酸的合成,机体脂肪沉积量逐渐增加,促进机体生长发育;随着饲粮泛酸添加水平的增多,泛酸在动物机体内逐渐积累,对体内脂肪酸  $\beta$ -氧化的抑制作用逐渐消除,ATGL mRNA 表达量开始上升。

表 2 饲粮泛酸添加水平对鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量的影响

Table 2 Effects of dietary pantothenic acid supplemental level on the expression of ATGL and ACSL1 mRNA in liver of geese

	组别 Groups							P值 P-value		
项目							SE	泛酸	线性	二次
Items	I	II	III	IV	V VI		SE	Pantothenic	Linear	Quadratic
								acid	Linear	Quadratic
脂肪甘油三酯	1.58 <sup>b</sup>	0.49°	0.44 <sup>d</sup>	0.47°	0.48 <sup>c</sup>	1.80a	0.39	0.003	0.413	0.070
脂肪酶 ATGL	1.50	0.42	0.44	0.47	0.40	1.00	0.37	0.003	0.413	0.070
长链脂酰辅酶										
A 合成酶 1	$1.04^{a}$	$1.14^{ab}$	$3.06^{c}$	4.73°	3.91 <sup>bc</sup>	1.21 <sup>ab</sup>	0.92	0.000	0.668	0.028
ACSL1										

同行数据肩标相同小写字母或无字母表示差异不显著(P>0.05),相邻小写字母表示差异显著(P<0.05),相间小写字母差异极显著(P<0.01)。下表同。

In the same row, values with the same small or no letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with adjacent small letter superscripts mean significant difference (P<0.05), and with alternate small letter superscripts mean significant difference (P<0.01). The same as below.

以 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量( $Y_1$ 、 $Y_2$ )分别与饲粮中泛酸添加水平(X)进行二次曲线拟合,建立回归方程如下:

 $Y_1=0.007X^2-0.194X+0.898$  ( $R^2=0.913$ ,  $P_0=0.000$ );

 $Y_2=-2.03E-4X^2+0.09X+1.327$  ( $R^2=0.726$ ,  $P_Q=0.000$ ).

由上述曲线回归方程得出:饲粮泛酸添加水平为 13.86 mg/kg 时, *ATGL* mRNA 表达量最低;添加水平为 22.07 mg/kg 时, *ACSL*1 mRNA 表达量最高。

2.2 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与生长性能的相关性

由表 3 可知,饲粮泛酸添加水平对试验鹅的体重、平均日增重和料重比影响显著 (*P*<0.05),且均呈显著的二次曲线关系(*P*=0.070、*P*=0.017 和 *P*=0.006),随着饲粮泛酸添加水平的提高,试验鹅的体重和平均日增重有先升高再降低的趋势,料重比有先降低后升高的趋势。饲粮泛酸添加水平对试验鹅平均日采食量影响不显著(*P*>0.05)。

以上结果表明,饲粮泛酸添加水平为 10~20 mg/kg 时,能极显著提高鹅的体重和平均日增重,降低料重比。

表 3 饲粮泛酸添加水平对鹅生长性能的影响

Table 3 Effects of dietary pantothenic acid supplemental level on performance of geese

	组别 Groups						P 值 P-value							
项目							SE	泛酸	线性	二次				
Items	I	II	III	IV	V	VI	SE	Pantothenic	Linear	Quadratic				
								acid	Lilleai	Quadratic				
体重	3.13a	3.43 <sup>b</sup>	3.71°	3.83°	3.45 <sup>b</sup>	3.39 <sup>b</sup>	0.03	0.000	0.413	0.070				
BW/kg	3.13	3.43	5.71	5.65	5.45	3.37	0.03	0.000	0.415	0.070				
平均日增重	25.37a	29.28°	30.03°	32.55 <sup>d</sup>	27.56 <sup>b</sup>	26.37 <sup>ab</sup>	0.72	0.000	0.276	0.017				
ADG/g	23.37	27.20	30.03	32.33	27.30	20.37	0.72	0.000	0.270	0.017				
平均日采食量	158.24	156.86	159.60	162.75	162.15	162.80	1.85	0.273	0.029	0.642				
ADFI/g	130.24 130	150.00	30.00 137.00	102.73	102.13	102.00	1.05	0.275	0.02)	0.042				
料重比	6.25 <sup>d</sup>	5.36 <sup>b</sup>	5.32 <sup>ab</sup>	5.02a	5.90°	6.19 <sup>cd</sup>	0.36	0.000	0.114	0.006				
F/G	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	3.30	3.32	3.02	3.70	0.17	0.50	0.000	0.114	0.000

由表 4 可知,ATGL mRNA 表达量与体重(P>0.05)、平均日增重(P<0.05)呈负相关,与料重比(P<0.05)、泛酸添加水平(P>0.05)呈正相关;ACSL1 mRNA 表达量与体重(P<0.05)、平均日增重(P>0.05)和平均日采食量(P>0.05)呈正相关(P<0.05),与料重比(P>0.05)、泛酸添加水平(P>0.05)呈负相关。

由此可见,随着饲粮泛酸添加水平的提高,ACSL1 mRNA 的表达能够促进体重的增长,提高平均日增重;而 ATGL mRNA 的表达则抑制体重增长;以上结果表明,2基因对生长速度呈同步反向调控规律,机体生长发育存在平衡调控机制。

表 4 肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与生长性能的相关性

Table 4 The correlation of liver ATGL and ACSL1 mRNA expression and performance

项目	泛酸添加水	体重	平均日增重	平均日采食	料重比
Items	平	WB	ADG	量	F/G
	Pantothenic			ADFI	
	acid				
	supplemental				
	level				
脂肪甘油三酯脂肪	酶				
mRNA 表达量	0.457	-0.686	-0.770*	0.095	$0.825^{*}$
ATGL mRNA expression	n				
长链脂酰辅酶 A 合成	梅				
1 mRNA 表达量	0.004	0.500*	0.701	0.505	0.500
ACSL1 mRN	-0.024 JA	0.782*	0.701	0.595	-0.590
expression					

<sup>\*、\*\*</sup>分别表示在 0.05、0.01 水平上的差异显著。下表同

# 2.3 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与屠宰指标的相关性

由表 5 可知,ATGL mRNA 表达量与胸肌率、腿肌率、屠宰率、半净膛率和全净膛率呈负相关,而 ACSL1 mRNA 表达量与胸肌率、腿肌率、屠宰率、半净膛率和全净膛率呈正相关;两者 mRNA 表达量对腹脂率均呈负相关。

以上结果表明,ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量对鹅机体组织的构成有密切相关,并呈同步反向调控规律。

表 5 肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与屠宰性能的相关性

Table 5 The correlation of liver ATGL and ACSL1 mRNA expression and slaughter performance

项目	屠宰率	半净膛率	全净膛率	胸肌率	腿肌率	腹脂率
Items	Dressed percentage	Percentage of	Percentage of	Percentage	Percentage of leg muscle	Percentage of abdominal
	percentage	half-eviscera	eviscerated	of breast	or leg masere	or abdommar
		ted yield	yield	muscle		
脂肪甘油三酯	-0.727	-0.733	-0.399	-0.872*	-0.766*	-0.760*

脂肪酶 mRNA

表达量

<sup>\*</sup> and \*\* mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels, respectively. The same as below.

 ATGL mRNA

 expression

 长链脂酰辅酶 0.911\*\* 0.809\* 0.460 0.773 0.831\* -0.799\*

 A 合成酶 1

 mRNA表达量

 ACSL1 mRNA

 expression

## 2.4 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与胴体品质的相关性

由表 6 可知,肝脏中 ATGL mRNA 表达量与鹅胴体品质的各项指标均无显著相关性(P >0.05);而肝脏中 ACSL1 mRNA 表达量与红度呈显著正相关(P<0.05),与滴水损失呈显著负相关(P<0.05)。

以上结果表明,ACSL1 mRNA 与鹅胴体品质有关,随着 ACSL1 mRNA 表达量的提高,红度随之显著增加,滴水损失显著下降,有助于提高胴体品质。

表 6 肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与胴体品质的相关性

Table 6 The correlation of liver ATGL and ACSL1 mRNA expression and carcass quality

项目	亮度	红度	黄度	剪切力	pН	滴水损失	失水率
Items	$L^*$	a*	$b^*$	Shearing		Drip loss	Water loss
				force			rate
脂肪甘油三酯	-0.685	-0.700	0.200	0.643	0.436	0.542	-0.498
脂肪酶 mRNA							
表达量							
ATGL mRNA							
expression							
长链脂酰辅酶	0.718	0.765*	0.411	-0.753	-0.064	-0.839*	0.170
A 合成酶 1							
mRNA 表达量							
ACSL1 mRNA							
expression							

2.5 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与血清脂类代谢指标的相关性

由表 7 可知,肝脏中 ATGL mRNA 表达量与甘油三酯呈极显著正相关(P<0.01),与高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇呈显著正相关(P<0.05),与总胆固醇无显著相关性(P>0.05);肝脏中 ACSL1 mRNA 表达量与甘油三酯呈显著负相关(P<0.05)。

以上结果表明,ATGL mRNA 能显著促进脂类代谢,随着 ATGL mRNA 表达量的提高,血清中各项脂类代谢指标也随着增加;而 ACSL1 mRNA 对脂类代谢具有抑制作用,随着 ACSL1 mRNA 表达量的提高,血清中各项脂类代谢指标出现不同程度的降低;二者之间存在着同步反向调控机制。

表 7 肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与血清脂类代谢指标的相关性

Table 7 The correlation of liver *ATGL* and *ACSL*1 mRNA expression and serum lipid metabolism indicators

项目	总胆固醇	甘油三酯	高密度脂蛋白胆固	低密度脂蛋白胆固
			醇	醇
Items	TCH	TG	HDL-C	LDL-C
脂肪甘油三酯脂肪酶 mRNA	0.676	0.923**	0.782*	0.798*
表达量				
ATGL mRNA expression				
长链脂酰辅酶 A 合成酶 1	-0.583	-0.775*	-0.618	-0.558
mRNA 表达量				
ACSL1 mRNA expression				

### 3 讨论

#### 3.1 饲粮泛酸添加水平对鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量的影响

泛酸是一种水溶性维生素,是辅酶 A(CoA)和酰基载体蛋白(ACP)生物合成的重要 前体物质,参与生物体内碳水化合物、脂肪酸、蛋白质和能量代谢反应;还可以通过修饰蛋白来影响蛋白质的定位、稳定性和活性。迄今为止,国内外关于泛酸对鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量的研究尚处于空白。本试验结果表明,各组试验鹅肝脏中的 ATGL mRNA 表达量随饲粮泛酸添加水平的增加呈现先降低后升高的趋势,ACSL1 mRNA 表达量随饲粮泛酸添加水平的增加呈现先升高后降低的趋势,两者呈同步反向调控规律。ATGL mRNA 表达量的最低值出现在饲粮泛酸添加水平为 10 mg/kg 时; ACSL1 mRNA 表达量的最高值出现在饲粮泛酸添加水平为 20 mg/kg 时。分析其原因,泛酸在生物体内的吸收机制是

主动积累的过程,依靠一种广泛存在于机体中的 Na+依赖转运体转运泛酸进入细胞,每转运 1 个泛酸需要 2 个 Na+协同<sup>[10]</sup>,具有种间相似性。泛酸缺乏时,会导致体内脂肪酸  $\beta$ -氧化受 到抑制,体内主要产能过程受到抑制,不利于机体的生长发育,随着饲粮泛酸添加水平的增 多,泛酸在动物机体内逐渐积累,体内脂肪酸  $\beta$ -氧化的抑制作用逐渐消除,伴随机体大量 能量的产生,ACSL1 mRNA 表达量开始上升,促进长链脂肪酸的合成,利于机体生长发育。 随着脂肪酸在体内的积累,ATGL mRNA 表达量逐渐下降,与 Schoenborn 等<sup>[11]</sup>关于 ATGL 基因与机体内游离脂肪酸的水平成反向调控的研究相一致。

从本试验的结果还可以看出,当饲粮泛酸添加水平达到 13.86 mg/kg 时,ATGL mRNA 表达量最低,当添加水平达到 22.07 mg/kg 时,ACSL1 mRNA 表达量最高,不仅表明 ATGL 和 1 mRNA 表达量与饲粮泛酸添加水平有着直接关系,而且显示其表达量达到极值时泛酸添加水平明显高于最佳生长性能状态下的添加水平,其内部调控机制还有待于继续研究。

### 3.2 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与生长性能的相关性

泛酸为辅酶 A 的组分,对于各种组织内的内源性代谢能量交换都很重要,其主要作用包括营养物的利用、脂肪的合成和分解代谢、柠檬酸循环等过程。Coelho<sup>[12]</sup>研究表明,饲粮中添加 B 族维生素能明显提高畜禽的日增重。Deyhim 等<sup>[13]</sup>研究证实,泛酸可以促进肉鸡生长。祁风华等<sup>[14]</sup>试验结果表明,肉仔鸡饲粮中泛酸的添加水平为 10 mg/kg 时,可以提高粗蛋白质、粗脂肪等的代谢率,促进脂肪酸的合成,提高机体增重,当添加水平为 15 mg/kg时,增重不显著且会增加饲养成本。本试验研究表明,饲粮添加 10~20 mg/kg 的泛酸能极显著提高五龙鹅的体重和平均日增重,同时极显著降低料重比,与上述的研究结果具有一致性。在鹅的饲粮中添加泛酸会促进 ACSL1 mRNA 的表达,增加脂肪的形成与沉积,并通过减少 ATGL mRNA 的表达,抑制相关酶的活性,促进体重的增长,2 个基因对于机体的生长阶段均有显著相关性。

在家禽肉品质量的营养中,嫩度、多汁性、肉色是决定禽肉品质的重要因素。这些因素主要取决于动物或胴体内的一些代谢和生物学指标<sup>[15]</sup>。胴体品质中的红度值主要取决于肉色中的色素物质、肌红蛋白和血红蛋白含量及化学状态<sup>[16]</sup>。脂质氧化过程中产生的自由基可直接促进肌肉色素发生氧化,或者通过破坏色素还原系统间接作用导致肉色变差,肉质下降<sup>[17]</sup>。本试验研究表明,肝脏中 *ACSL*1 mRNA 表达量与红度值呈显著正相关,说明泛酸通过调节 *ACSL*1 mRNA 的表达,在一定程度上调控了机体中肌红蛋白、血红蛋白等色素物质的产生,对机体的抗氧化功能具有一定的影响。

## 3.3 鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量与血清脂类代谢指标的相关性

国外研究表明,ATGL参与了脂肪组织中95%的甘油三酯水解代谢,为甘油三酯分解过 程中的关键脂肪酶。Ong 等[18]研究显示,由腺病毒介导的肝脏 ATGL 基因敲除小鼠体内出现 肝脂肪变性,同时原代肝细胞内甘油三酯降解速率受到抑制;与此同时,还发现脂肪酸氧化 在 ATGL 基因超表达小鼠体内得到增加,而在 ATGL 基因敲除小鼠体内却得到相反的结果。 Smirnoval 等[19]研究表明,野生型 ATGL 基因在非脂肪细胞中的过量表达导致脂滴大小显著 下降,相反,失去催化活性的突变体尽管具有保留定位于脂滴周围的能力,但已失去降解脂 滴的作用;与此同时,他们对 ATGL 基因进行干扰试验后,发现脂滴大小显著增加,这说明 ATGL 基因在细胞脂滴周转更新过程中起着重要的作用。Zechner 等[20]进一步研究证实, ATGL 催化机体整个脂解过程中的第1步,也是脂解限速的关键一步。大量研究表明,在哺 乳动物中 ACSL1 基因主要表达于脂肪组织和肝脏,与甘油三酯的合成和脂肪酸的摄取有关 [<sup>21</sup>]。Bionaz 等[<sup>22</sup>]研究发现,与初期相比,奶牛泌乳高峰期乳腺中 ACSL1 的表达量呈极显著 上升,乳汁中甘油三酯含量也急剧上升。在 HepG2 细胞中,过表达 ACSL1 导致细胞内甘油 三酯的含量增加了 40%,并且长链脂酰辅酶 A 的含量也增加了 60%<sup>[23]</sup>。本试验结果表明, ATGL mRNA 表达量与血清中甘油三酯含量呈极显著正相关,与 Coleman 等[24]研究结果相一 致。在五龙鹅的饲养过程中随着饲粮中泛酸添加水平的增加,肝脏中 ACSL1 mRNA 的表达 量受到不同程度的影响,并且其表达量与血清中甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂 蛋白胆固醇含量的变化呈显著正相关。这暗示在五龙鹅的组织生长脂肪沉积过程中 ATGL 和 ACSL1 基因对促进脂质合成和脂肪酸的运转都发挥了积极的作用。

### 4 结 论

- ① 饲粮泛酸添加水平对鹅肝脏中 ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量影响显著,饲粮 泛酸添加水平为 13.86 mg/kg 时,ATGL mRNA 表达量最低;添加水平为 22.07 mg/kg 时,ACSL1 mRNA 表达量最高。
- ② 饲粮中添加 10~20 mg/kg 泛酸能极显著提高五龙鹅的体重和平均日增重,同时极显著降低料重比。
- ③ ATGL 和 ACSL1 mRNA 表达量对鹅机体生长速度、屠宰性能和脂类代谢呈同步反向调控机制。
- ④ 建议 5~16 周龄五龙鹅饲粮中泛酸的适宜添加水平为 13.86~22.07 mg/kg。 参考文献:
- [1] ZIMMERMANN R,STRAUSS J G,HAEMMERLE G,et al.Fat mobilization in adipose tissue is Promoted by adipose triglyceride lipase[J].Science,2004,306(5700):1383–1386.

- [2] LASS A,ZIMMERMANN R,HAEMMERLE G,et al.Adipose triglyceride lipase-mediate d lipolysis of cellular fat stores is activated by CGI-58 and defective in chanarin-dorfman syndrome[J].Cell Metabolism,2006,3(5):309–319.
- [3] KIM J Y,TILLISON K,LEE J H,et al.The adipose tissue triglyceride lipase ATGL/PN PLA2 is downregulated by insulin and TNF-α in 3T3-L1 adipocytes and is a target for tra nsactivation by PPARγ[J].American Journal of Physiology: Endocrinology and Metabolism,2 006,291(1):E115–E1127.
- [4] LI S F,LU L,HAO S F,et al.Dietary manganese modulates expression of the mangane se-containing superoxide dismutase gene in chickens[J].The Journal of Nutrition,2011,141(2): 189–194.
- [5] SWITALA J,LOEWEN P C.Diversity of properties among catalases[J]. Archives of Bio chemistry and Biophysics, 2002, 401(2):145–154.
- [6] FENG J,MA W Q,XU Z R,et al.The effect of iron glycine chelate on tissue mineral levels, fecal mineral concentration, and liver antioxidant enzyme activity in weanling pigs[J]. Animal Feed Science and Technology, 2009, 150(1/2):106–113.
- [7] NRC.Nutrient requirements of poultry[S].9th ed.Washington,D.C.:National Academy Pre ss,1994.
- [8] 陈宽维,高玉时,王志跃,等.中华人民共和国农业行业标准 家禽生产性能名词术语和度量统计方法[J].中国禽业导刊,2006(15):45-46.
- [9] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局.GB/T 9695-2008 肉制品检测标准[S].北京:中国标准出版社,2008.
- [10] 丁玉琴,郭俊生,赵法伋.多维生素转运体[J].卫生研究,2002,31(6):481-483.
- [11] SCHOENBORN V,HEID I M,VOLLMERT C,et al.The ATGL gene is associated with h free fatty acids,triglycerides,and type 2 diabetes[J].Diabetes,2006,55(5):1270–1275.
- [12] COELHO M.增加 B 族维生素喂量有利于瘦肉生长[J].孙晓燕,译.国外畜牧学:猪与禽,2 002(2):31-33.
- [13] DEYHIM F,BELAY T,TEETER R G.An evaluation of dietary pantothenic acid needs of broilers through eight weeks posthatching[J].Nutrition Research,1992,12(12):1549–1554.
- [14] 祈凤华,陈瑶,徐春生.泛酸对肉仔鸡营养物质代谢率影响的研究[J].黑龙江畜牧兽医,200 9(8):36-37.

- [15] CLOSE W H,杨虹.猪肉和禽肉质量的营养调控[J].国外畜牧学:猪与禽,1998(3):47-50.
- [16] 张惠,闫俊书,宦海林,等.放牧饲养对雪山草鸡屠宰性能及肉色的影响[J].南方农业学报, 2011,42(6):672-675.
- [17] MCKEE J S,HARRISON P C,RISKOWSKI G L.Effects of supplemental ascorbic acid on the energy conversion of broiler chicks during heat stress and feed withdrawal[J].Poultry Science,1997,76(9):1278–1286.
- [18] ONG K T,MASHEK M T,BU S Y,et al.Adipose triglyceride lipase is a major hepat ic lipase that regulates triacylglycerol turnover and fatty acid signaling and partitioning[J]. Hepatology,2011,53(1):116–126.
- [19] SMIRNOVA E,GOLDBERG E B,MAKAROVA K S,et al.ATGL has a key role in 1 ipid droplet/adiposome degradation in mammalian cells[J].EMBO Reports,2006,7(1):106–113.
- [20] ZECHNER R,KIENESBERGER P C,HAEMMERLE G,et al.Adipose triglyceride lipas e and the lipolytic catabolism of cellular fat stores[J].Journal of Lipid Research,2009,50(1): 3–21.
- [21] LEWIN T M,KIM J H,GRANGER D A,et al.Acyl-CoA synthetase isoforms 1,4 and 5 are present in different subcellular membranes in rat liver and can be inhibited indepen dently[J].Journal of Biological Chemistry,2001,276(27):24674–24679.
- [22] BIONAZ M,LOOR J J.ACSL1,AGPAT6,FABP3,LPIN1 and SLC27A6 Are the most ab undant isoforms in bovine mammary tissue and their expression is affected by stage of lac tation[J]. The Journal of Nutrition, 2008, 138(6):1019–1024.
- [23] PAKERS H A,PRESTON E,WILKS D,et al.Overexpression of acyl-CoA synthetase-1 increases lipid deposition in hepatic (HepG2) cells and rodent liver *in vivo*[J].American J ournal of Physiology: Endocrinology and Metabolism,2006,291(4):E737–E744.
- [24] COLEMAN R A,LEWIN T M,MUOIO D M.Physiological and nutritional regulation of enzymes of triacylglycerol synthesis[J].Annual Review of Nutrition,2000,20(1):77–103.

Pantothenic Acid Intervention of Adipose Triglyceride Lipase and Long-Chain-Fatty-Acid CoA

Ligase 1 Gene Expression and Reverse Regulation of Growth and Lipid Metabolism of Geese

KONG Min<sup>1,2</sup> WANG Baowei<sup>1,2\*</sup> GE Wenhua<sup>1</sup> ZHANG Ming ai MA Chuanxing<sup>1,2</sup>

ZHANG Xiao<sup>1,2</sup>

(1. Nutrition and Feed Laboratory of China Agriculture Research System, Institute of High Quality Waterfowl, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China; 2. College of Animal Science and Technology, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

This experiment was conducted to study the impact of pantothenic acid on li ver adipose triglyceride lipase (ATGL) and long-chain-fatty-acid CoA ligase 1 (ACSL1) gen e expression of Wulong geese aged from 5 to 16 weeks, to analyzed the correlation of gr owth performance, slaughter performance and meat quality with ATGL and ACSL1 genes, and to find the appropriate supplemental level of pantothenic acid of geese from the mole cular point of view. A total of 360 five-week-old Wulong geese were randomly divided int o 6 groups with 6 replicates per group and 10 geese per replicate. Geese in the 6 groups were fed the basal diet supplemented with 0 (control), 5, 10, 20, 40 and 80 mg/kg pa ntothenic acid, respectively. The experiment lasted for 12 weeks. The results showed as fo llows: 1) with the dietary pantothenic acid supplemented level increasing, the ATGL mRN A expression showed a firstly decreased and then increased trend and the ACSL1 mRNA e xpression showed a firstly increased and then decreased trend. Derived from the regression equation, the ATGL mRNA expression was the lowest when dietary supplemented with 1 3.86 mg/kg pantothenic acid, and the ACSL1 mRNA expression was the highest when diet ary supplemented with 22.07 mg/kg pantothenic acid. 2) Compared with the control group, dietary supplemented with 10 to 20 mg/kg pantothenic acid significantly improved the bo dy weight and average daily gain (P < 0.01), and significantly reduced the feed to gain (P < 0.01) 0.01). 3) The ATGL mRNA expression with percentage of breast muscle, percentage of leg muscle, dressed percentage, percentage of half-eviscerated yield and percentage of eviscer ated yield was negatively correlated; the ACSL1 mRNA expression with percentage of brea st muscle, percentage of leg muscle, dressed percentage, percentage of half-eviscerated yiel d and percentage of eviscerated yield was positively correlated; and two genes mRNA exp ression with percentage of abdominal were negatively correlated. 4) The ACSL1 mRNA ex pression was significantly correlated with red value and water loss (P<0.05). 5) The ATGL mRNA expression was positively correlated with the serum lipid metabolism indicators, a nd the ACSL1 mRNA expression was negatively correlated with serum lipid metabolism in dicators. In conclusion, the ATGL and ACSL1 mRNA expression of geese with body growt h speed, slaughter performance and lipid metabolism shows a synchronous reverse regulati on mechanism; from *ACSL*1 mRNA and *ATGL* mRNA advantage analysis of expression, th e dietary appropriate pantothenic acid supplemental level of geese aged from 5 to 16 weeks is 13.86 to 22.07 mg/kg.

**Key words:** pantothenic acid; ATGL; ACSL1; gene regulation; growth and development; lipid metabolism

\*Corresponding author, professor, E-mail: wangbw@qau.edu.cn (责任编辑 武海龙)